


Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Изучение потенциала исходного селекционного материала пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в андрогенезе *in vitro*

Н.В. Петраш , Т.Н. Капко, В.В. Советов


Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия  
 [pnv11@bionet.nsc.ru](mailto:pnv11@bionet.nsc.ru)

**Аннотация.** Создание удвоенных гаплоидов – ценный биотехнологический подход в селекции растений, позволяющий ускоренно создавать новые сорта за счет одноэтапного получения гомозиготных линий. Целью настоящего исследования было проведение оценки показателей андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников исходного селекционного материала сортов и комбинаций  $F_1$  и  $F_2$  и выявление перспективных образцов с хорошей отзывчивостью. В работе использован растительный материал, перспективный для селекционных программ Сибирского научно-исследовательского института растениеводства и селекции – филиала ИЦиГ СО РАН. Десять сортов мягкой пшеницы и гибриды  $F_1$  и  $F_2$  девяти комбинаций скрещивания оценивали по основным параметрам андрогенеза *in vitro*: числу новообразований, числу альбиносов и зеленых растений-регенерантов и всех регенерировавших растений. Индукцию андрогенеза *in vitro* проводили в культуре пыльников на питательной среде Chu (N6), в качестве регулятора роста использовали 1 мг/л 2,4-Д. У изучаемых образцов обнаружен различный ответ на индукцию андрогенеза *in vitro*. Отмечен максимальный выход новообразований у гибридов  $F_2$  Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335. Наибольшее количество зеленых растений-регенерантов обнаружено у  $F_1$  Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335. По результатам дисперсионного анализа установлено достоверное ( $p < 0.01$ ) влияние генотипа на изучаемые признаки. Выявлены сорта с хорошей отзывчивостью в культуре пыльников (Новосибирская 15) и с отсутствием отзывчивости к андрогенезу *in vitro* (Новосибирская 31). Сорт Новосибирская 16 характеризовался низкой регенерационной способностью новообразований. Среди гибридов значительный гетерозисный эффект отмечен по признаку «число новообразований на 100 пыльников» в комбинациях Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335, Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09, Загора Новосибирская × Обская 2. Сорт Новосибирская 15 рекомендован к включению в скрещивания как сорт, обеспечивающий высокую отзывчивость в андрогенезе *in vitro* гибридов. Применение технологии удвоенных гаплоидов позволило быстро создать ДН-линии на основе изучаемого материала. Ключевые слова: удвоенные гаплоиды; андрогенез *in vitro*; культура пыльников; *Triticum aestivum* L.; гетерозисный эффект.

**Для цитирования:** Петраш Н.В., Капко Т.Н., Советов В.В. Изучение потенциала исходного селекционного материала пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в андрогенезе *in vitro*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2023;27(8): 1022-1030. DOI 10.18699/VJGB-23-117

## Study of wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material potential for *in vitro* androgenesis

N.V. Petrash , T.N. Kapko, V.V. Sovetov

Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia  
 [pnv11@bionet.nsc.ru](mailto:pnv11@bionet.nsc.ru)

**Abstract.** Doubled haploid technology is a valuable biotechnological approach in plant breeding that enables one to quickly create new varieties through the single-stage production of homozygous lines. The aim of this study was to assess the indicators of *in vitro* androgenesis in the anther culture of the initial breeding material of varieties and combinations of  $F_1$  and  $F_2$  and to identify promising accessions with good responsiveness. For that purpose, the plant material that proved promising for the breeding programs of Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding (SibRIPP&B) was used. Ten cultivars of common wheat and the  $F_1$  and  $F_2$  hybrids of nine combinations were evaluated for the main parameters of *in vitro* androgenesis such as the number of new formations, albino, green and all regenerated plants. Induction of androgenesis *in vitro* was carried out in anther culture in growth medium Chu (N6) containing 1 mg/l of growth regulator 2,4-D. The studied samples showed different responses to induction. The maximum level of new formations was found in  $F_2$  hybrids Novosibirskaya 15 × Lutescens ShT-335. The largest number of green plants was found in  $F_1$  Novosibirskaya 15 × Lutescens ShT-335. According to the results of variance analysis, a significant ( $p < 0.01$ ) influence of genotype on the studied traits was established. Varieties with good responsiveness to anther culture (Novosibirskaya 15) and lack of responsiveness to *in vitro* androgenesis (Novosibirskaya 31)

were identified. Novosibirskaya 16 was characterized by a low regeneration capacity of new formations. A significant heterotic effect was revealed considering the number of new formations per 100 anthers among the hybrids of such combinations as Novosibirskaya 15 × *Lutescens* ShT-335, Novosibirskaya 15 × *Lutescens* 111/09, and Zagora Novosibirskaya × Obskaya 2. Novosibirskaya 15 was recommended for inclusion in crossings as a parental form that provides high hybrid responsiveness during *in vitro* androgenesis. The use of doubled haploid technology made it possible to quickly create DH-lines based on the breeding material.

Key words: doubled haploids; *in vitro* androgenesis; anther culture; *Triticum aestivum* L.; heterosis.

**For citation:** Petrash N.V., Kapko T.N., Sovetov V.V. Study of wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material potential for *in vitro* androgenesis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(8): 1022-1030. DOI 10.18699/VJGB-23-117

## Введение

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) – важнейшая злаковая культура и основной источник растительного белка для человечества. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО), за период 2019–2021 гг. в мире ежегодно в среднем производится свыше 760 млн тонн пшеницы, из них в России – 78.8 млн тонн<sup>1</sup>. С увеличением населения Земли встает необходимость наращивания производства зерна. По прогнозам мировых рынков зерновых, на период 2021–2030 гг. производство зерна должно увеличиться до 840 млн тонн, в том числе за счет повышения урожайности пшеницы<sup>2</sup>.

Основная задача селекции – это создание новых сортов, сочетающих высокую продуктивность, экологическую пластичность, устойчивость к болезням и другим факторам среды. Для решения этой задачи необходимо вовлечение нового селекционного материала и современных биотехнологических методов.

В процессе выведения нового сорта пшеницы наряду с традиционными методами, включающими гибридизацию, многоступенчатый отбор с последующей чередой самоопылений для достижения однородности и константности, в последнее время широко применяются различные подходы, позволяющие оптимизировать селекционный процесс. Большое распространение получил метод создания линий удвоенных гаплоидов, ДН (от англ. *doubled haploids*). Это полностью гомозиготные линии, полученные при удвоении числа хромосом гаплоидного растения. Они являются уникальным генетическим материалом для ускорения процесса селекции и снижения его трудоемкости, а также для создания картирующих популяций, фенотипирования и генотипирования (Hao et al., 2013; Hale et al., 2022).

Появляется возможность получать гомозиготные линии из гибридного материала всего за одну генерацию, в свою очередь, классические методы селекции позволяют достичь этого только через пять-шесть поколений самоопыления. Таким образом, селекционеры могут выпустить новый сорт уже через пять-семь лет, что дает возможность быстро реагировать на потребности производителей.

В последние годы внимание исследователей было направлено на усовершенствование методических протоколов, что позволило ДН-технологии стать быстрым и точным инструментом достижения гомозиготности исходного селекционного материала (Maluszynski et al., 2003; Wędzony et al., 2009; Seguí-Simarro et al., 2021b). Отправной

точкой исследований в этой области послужило открытие индийских ученых способности культивируемых пыльников *Datura* формировать гаплоидные зародыши и проростки (Guha, Maheshvari, 1964). В настоящее время доступны протоколы получения ДН-линий почти для 400 видов (Seguí-Simarro et al., 2021a). По некоторым данным, во всем мире выпущено более 300 сортов, полученных с использованием ДН-технологий для 12 видов растений (Forster, Thomas, 2005).

Удвоенные гаплоиды могут быть получены *in vivo* и *in vitro* способами. Использование *in vivo* систем заключается в получении гаплоидного зародыша при партеногенезе, псевдогамии, отдаленной гибридизации с последующей элиминацией хромосом чужеродного вида опылителя или при внутривидовых скрещиваниях (опыление обработанной пылью, скрещивание с линиями гаплоидной индукции). Эти способы получения ДН обязательно включают последующее удвоение хромосом. Методы *in vitro* основаны на развитии целых растений из клеток гаметофита, это может быть гиногенез (культивирование на питательных средах завязей и цветков) или андрогенез (культивирование пыльников и изолированных микроспор) (Forster, Thomas, 2005; Seguí-Simarro et al., 2021b).

Культура микроспор и пыльников широко используется для создания гаплоидных и ДН-растений в селекционных программах пшеницы (Dunwell, 2010; Lantos et al., 2013; Seguí-Simarro et al., 2021a). Получение удвоенных гаплоидов посредством андрогенеза в культуре пыльников *in vitro* (КП) – простой и эффективный метод создания чистых линий (Уразалиев, 2015; Castillo et al., 2015; Lantos, Pauk, 2016; Колесникова и др., 2021). Суть этого процесса состоит в переключении программы развития микроспор с гаметофитного (образование пыльцевого зерна) на спорофитный путь развития, при котором формируются эмбриоподобные структуры и каллусы, дающие начало целым растениям-регенерантам (Эмбриологические основы..., 2005). Ценность таких растений значительна, поскольку они возникают из клеток после мейотического деления и, таким образом, имеют уникальные комбинации генов. Гаплоидные клетки по мере роста на питательной среде могут подвергаться дублированию своего генома, формируя спонтанные ДН-растения со 100 % гомозиготностью. У гомозиготных организмов действие рецессивных генов проявляется наряду с доминантными, поэтому при работе с ними значительно сокращается время отбора нужных генотипов (Kasha, Maluszynski, 2003).

На эффективность андрогенеза в КП влияют многие факторы, такие как условия выращивания доноров, стадия развития микроспор, условия предобработок, состав

<sup>1</sup> Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

<sup>2</sup> OECD/FAO (2021), OECD-FAO Agricultural Outlook 2021–2030, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/19428846-en>

**Таблица 1.** Комбинации F<sub>1</sub>–F<sub>2</sub> пшеницы и их родительские сорта, оцениваемые по отзывчивости андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников

№ п/п	Сорта	№ п/п	Комбинации, поколения F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub>	Номер комбинации
1	Новосибирская 15	11	Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335	№ 3
2	Новосибирская 16	12	Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09	№ 2
3	Новосибирская 18	13	Новосибирская 16 × Лютеценс 111/09	№ 7
4	Новосибирская 31	14	Новосибирская 18 × Лютеценс 111/09	№ 9
5	Новосибирская 75	15	Новосибирская 18 × Сигма	№ 61
6	Загора Новосибирская	16	Новосибирская 75 × Лютеценс 111/09	№ 23
7	Обская 2	17	Новосибирская 31 × Лютеценс 111/09	№ 14
8	Сигма	18	Загора Новосибирская × Лютеценс 111/09	№ 26
9	Лютеценс 111/09	19	Загора Новосибирская × Обская 2	№ 24
10	Лютеценс ШТ-335			

питательной среды, однако определяющим является влияние генотипа (Tuvešson et al., 2000; Lantos, Pauk, 2020; Seguí-Simarro et al., 2021b; Hale et al., 2022). Альбинизм и значительная генотипическая зависимость ограничивают успешность получения андрогенных растений-регенерантов (Li et al., 2013; Zhao L. et al., 2015). Реакция варьирует в зависимости от генотипа как среди видов, так и внутри них. Например, среди гексаплоидных пшениц озимые формы характеризуются в андрогенезе *in vitro* лучшим ответом, чем яровые (Sharma et al., 2005; Lazaridou et al., 2016). Пшенично-ржаная транслокация 1RS.1BL положительно влияет на регенерацию растений в андрогенезе *in vitro* (Agache et al., 1989; Першина и др., 2013; Тимонова и др., 2022).

Установлено аддитивное, доминантное и эпистатические взаимодействия генов, отвечающих за наследование андрогенных признаков в КП (Chaudhary et al., 2003; Dagüstü, 2008; Grauda et al., 2016). В то же время некоторые результаты показали, что андрогенный ответ в КП следует простой схеме наследования и контролируется доминантными генами (El-Neppawy et al., 2011). В работе (Abd El-Fatah et al., 2020) показано, что аддитивные эффекты были более важными, чем эффекты доминирования в генетическом контроле признаков андрогенеза *in vitro*.

Одна из стратегий преодоления генотипической зависимости заключается в использовании в скрещиваниях отзывчивого в андрогенезе *in vitro* селекционного материала, т. е. один из родителей, участвующих в скрещивании, должен индуцировать развитие зеленых регенерантов у гибридов (Tuvešson et al., 2003; Kondic-Špika et al., 2011; Lantos, Pauk, 2020). Поэтому целесообразны проведение оценки исходных селекционных образцов и вовлечение в скрещивания наиболее подходящих, с хорошей отзывчивостью к андрогенезу *in vitro*.

Настоящее исследование проведено с целью оценки показателей андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников исходного селекционного материала сортов и комбинаций F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> яровой мягкой пшеницы и выявления перспективных образцов с хорошей отзывчивостью.

## Материалы и методы

В качестве материала использовали перспективные для селекционной программы Сибирского научно-исследовательского института растениеводства и селекции (СибНИИРС) – филиала ИЦиГ СО РАН образцы яровой мягкой пшеницы. Девять комбинаций F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> и десять родительских сортов были отобраны для оценки эффективности в андрогенезе *in vitro* (табл. 1).

Растения-доноры пыльников выращивали на опытном поле СибНИИРС в 2022 г. Сбор колосьев проводили с главных побегов, когда микроспоры в пыльниках находились в средней или поздней одноядерной стадии. Визуально это соответствует расположению середины колоса на уровне влагалища второго сверху листа. Оценку стадии развития микроспор осуществляли под микроскопом Leica CME, Leica Microsystems (Россия) на давленных цитологических препаратах, окрашенных ацетокармином.

Собранные в поле колосья помещали в термический контейнер с хладагентами, транспортировали в лабораторию, помещали в сосуды с дистиллированной водой и выдерживали в хладотермостате ТВЛ-К при температуре +4 °С в течение семи дней. После предобработки холодом колосья, находящиеся в колосовой трубке, поверхностно стерилизовали салфетками, смоченными поочередно в 70 и 96 % спирте, и переносили в стерильные условия бокса микробиологической безопасности. Пыльники выделяли из боковых цветков средней части каждого колоса, в среднем около 50 пыльников с каждого колоса. Минимум 100 пыльников в трехкратном повторении выделяли для каждого образца. Одна чашка Петри считалась одним повторением.

Пыльники с двух колосьев одного генотипа инокулировали в 100 мм Ø чашки Петри, содержащие 15–20 мл индукционной среды N6 (Chu, 1978) с добавлением 90 г/л сахаров (сахароза: мальтоза – 2:1); мио-инозитол – 100 мг/л; 2,4-Д – 1 мг/л, кинетин – 0.5 мг/л и растительный агар – 6 г/л. Чашки Петри с пыльниками инкубировали в темноте при температуре 28 °С до появления первых новообразований, затем продолжали инкубировать

при температуре 25 °С для дальнейшего роста структур. После 30–40 дней инкубации новообразования, достигшие в диаметре 1.5–2 мм, переносили по 3–5 структур в Ø 28 мм пробирки с регенерационной средой Гамборга, В5 (Gamborg, Eveleigh, 1968), без фитогормонов с добавлением сахарозы – 30 г/л и растительного агара – 5 г/л. Регенерация проростков происходила под светодиодными лампами с плотностью фотосинтетического потока фотонов (PPFD) 751.6 мкмоль/м<sup>2</sup>/с при 16-часовом световом периоде и температуре 18–20 °С в течение 20–30 дней.

Зеленые проростки с хорошо развитыми корнями и листьями вынимали из пробирок, тщательно отмывали корни от остатков питательной среды и пересаживали в отдельные горшочки (0.8 л) со смесью кокосового субстрата, универсального грунта и вермикулита в пропорции 3:1:1. Укоренившиеся растения выращивали под теми же светодиодными лампами при температуре 19–21 °С и влажности около 50–60 %. Растения выращивали до полной спелости. Отбирали только фертильные растения (спонтанно удвоенные гаплоиды), частично фертильные или стерильные растения выбраковывали.

Для оценки эффективности культуры пыльников проводили учет по показателям: число новообразований (эмбриоподобных структур и каллусов) на 100 выделенных пыльников (Ч Н/100П); число альбиносов на 100 выделенных пыльников (Ч А/100П); число зеленых регенерантов на 100 выделенных пыльников (Ч ЗР/100П); число всех регенерантов на 100 новообразований (Ч ВР/100Н).

Статистическую обработку данных выполняли средствами программного пакета Microsoft Excel 2010. Дисперсионный анализ проводили с использованием пакета прикладных программ SNEDECOR (Сорокин, 2004). Гетерозис истинный (Г<sub>ист</sub>, %) и гипотетический (Г<sub>гип</sub>, %) определяли по Д.С. Омарову (1975), согласно формулам (1) и (2):

$$Г_{ист} = F_1 - P_{луч} / P_{луч} \times 100 \%, \quad (1)$$

$$Г_{гип} = F_1 - P_{cp} / P_{cp} \times 100 \%, \quad (2)$$

где F<sub>1</sub> – изучаемый показатель у гибрида; P<sub>луч</sub> – этот же показатель у лучшего родителя; P<sub>cp</sub> – средний показатель между родительскими формами (P<sub>1</sub> + P<sub>2</sub>)/2.

Степень фенотипического доминирования (показатель наследования признаков) в контролируемых скрещиваниях определяли по методу Гриффинга (Griffing, 1956). Степень доминирования (H<sub>p</sub>) определяли по формуле (3):

$$H_p = F_1 - MF / HF - MF, \quad (3)$$

где H<sub>p</sub> – показатель наследования; F<sub>1</sub> – среднее значение признака в гибридной семье; MF – среднее значение при-

знака между обоими родителями; HF – значение признака у лучшего родителя. При условии: H<sub>p</sub> > 1 классифицировали положительный гетерозис; H<sub>p</sub> = 0.5–1.0 – положительное доминирование; при H<sub>p</sub> в диапазоне от +0.5 до –0.5 – промежуточное наследование; при H<sub>p</sub> = –0.5 до –1.0 – отрицательное доминирование; при H<sub>p</sub> < –1.0 – отрицательный гетерозис.

Инбридинговую депрессию (ID %) определяли согласно D.G. Pederson (1971) по формуле (4):

$$ID = (F_2 - F_1 / F_1) \times 100 \%, \quad (4)$$

где ID – инбридинговая депрессия; F<sub>1</sub> – среднее значение признака в гибридной семье первого поколения; F<sub>2</sub> – среднее значение признака в гибридной популяции второго поколения.

## Результаты и обсуждение

Успешность применения ДН-технологии в селекционных программах зависит от способности генотипов к регенерации зеленых растений в андрогенезе *in vitro*.

В настоящей работе осуществлена оценка способности к андрогенезу *in vitro* 10 сортов и 9 комбинаций поколений F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub>. Всего в опыте выделено и помещено на индукционную среду 16598 пыльников: не менее 100 пыльников для каждого образца в трехкратной повторности. В однофакторном дисперсионном анализе показано достоверное влияние генотипа на все изучаемые параметры андрогенеза *in vitro* (табл. 2).

Оцениваемые образцы проявляли различную реакцию в андрогенезе *in vitro* (табл. 3). Признак «число новообразований к 100 выделенным пыльникам» (Н/100П) показывает количество структур (эмбриоподобные структуры и каллусы), сформированных из микроспор. Этот признак варьировал в пределах от 0 до 17.20 (Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335, F<sub>2</sub>) при среднем значении 3.74. Число зеленых растений на 100 пыльников (ЗР/100П) в среднем достигло 1.45. Максимальным значением характеризовались гибриды F<sub>1</sub> Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335 и Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09, – 12.15 и 12.50 соответственно. Число альбиносов к 100 пыльникам (А/100П) в среднем составило 0.63. Наибольшие значения были у сорта Новосибирская 15 (2.67), F<sub>2</sub> Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335 (2.40) и F<sub>1</sub> Загора Новосибирская × Обская 2 (2.92). Среднее значение по признаку всего регенерантов на 100 пыльников было 2.08. В целом лучше регенерировали образцы F<sub>1</sub> Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335 и Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09 с преобладанием

**Таблица 2.** Однофакторный дисперсионный анализ признаков андрогенетического ответа в культуре пыльников *in vitro* сортов и гибридов F<sub>1</sub>–F<sub>2</sub> пшеницы

Источник варьирования	df	Число Н/100П		Число ЗР/100П		Число А/100П	
		Доля влияния, %	F <sub>факт</sub>	Доля влияния, %	F <sub>факт</sub>	Доля влияния, %	F <sub>факт</sub>
Фактор «генотип»	27	73.44	9.30*	78.57	12.00*	51.82	4.23*
Случайные факторы	56	26.56	–	21.43	–	48.18	–

\* p < 0.01 (F<sub>табл. 0.99</sub> = 2.18); df – число степеней свободы; F<sub>факт</sub> – расчетное значение критерия Фишера; Н/100П – новообразования на 100 пыльников; ЗР/100П – зеленые растения на 100 пыльников; А/100П – альбиносы на 100 пыльников.

**Таблица 3.** Показатели андрогенной способности в культуре пыльников *in vitro* сортов и гибридов F<sub>1</sub>–F<sub>2</sub> пшеницы

Генотип	Число Н/100П	Число ЗР/100П	Число А/100П	Число ВР/100П
Новосибирская 15	5.89 <sup>2</sup> ±1.26	1.67±0.33	2.67 <sup>1</sup> ±0.33	4.33 <sup>1</sup> ±0.58
Новосибирская 16	12.40 <sup>1</sup> ±2.67	0.40±0.40	1.40 <sup>1</sup> ±0.36	1.80±0.73
Новосибирская 18	5.21±0.70	0.21±0.22	1.00±0.55	1.21±0.70
Новосибирская 31	0.00	0.00	0.00	0.00
Новосибирская 75	2.13±0.46	0.27±0.46	0.53±0.32	0.80±0.78
Загора Новосибирская	2.71±0.66	0.12±0.21	0.47±0.41	0.59±0.21
Обская 2	0.47±0.31	0.20±0.35	0.07±0.12	0.27±0.46
Сигма	0.40±0.29	0.00	0.00	0.00
Лютесценс 111/09	1.43±0.73	0.29±0.08	0.57±0.31	0.86±0.37
Лютесценс ШТ-335	2.58±0.25	0.75±0.25	0.42±0.52	1.17±0.52
F <sub>1</sub> (Новосиб. 15×Лют. ШТ-335)	9.03 <sup>1</sup> ±1.35	12.15 <sup>1</sup> ±4.51	1.04 <sup>2</sup> ±0.00	13.19 <sup>1</sup> ±4.51
F <sub>2</sub> (Новосиб. 15×Лют. ШТ-335)	17.20 <sup>1</sup> ±2.95	3.87 <sup>1</sup> ±0.61	2.40 <sup>1</sup> ±1.06	6.27 <sup>1</sup> ±1.40
F <sub>1</sub> (Новосиб. 15×Лют. 111/09)	15.63 <sup>1</sup> ±2.76	12.50 <sup>1</sup> ±2.08	1.04 <sup>2</sup> ±0.00	13.54 <sup>1</sup> ±2.08
F <sub>2</sub> (Новосиб. 15×Лют. 111/09)	4.50±0.81	1.30±0.63	0.50±0.17	1.80±0.61
F <sub>1</sub> (Новосиб. 16×Лют. 111/09)	1.74±1.54	1.39±0.68	0.35±0.60	1.74±1.28
F <sub>2</sub> (Новосиб. 16×Лют. 111/09)	0.40±0.23	0.00	0.00	0.00
F <sub>1</sub> (Новосиб. 18×Лют. 111/09)	3.27±1.68	0.30±0.26	0.00	0.30±0.26
F <sub>2</sub> (Новосиб. 18×Лют. 111/09)	1.33±1.04	0.56±0.39	0.22±0.20	0.78±0.49
F <sub>1</sub> (Новосиб. 18×Сигма)	1.74±0.31	1.39±0.68	0.35±0.30	1.74±0.88
F <sub>2</sub> (Новосиб. 18×Сигма)	1.00±0.2	0.40±0.36	0.40±0.40	0.80±0.70
F <sub>1</sub> (Новосиб. 75×Лют. 111/09)	0.69±0.60	0.00	0.00	0.00
F <sub>2</sub> (Новосиб. 75×Лют. 111/09)	1.17±0.38	0.33±0.29	0.17±0.29	0.50±0.00
F <sub>1</sub> (Новосиб. 31×Лют. 111/09)	0.00	0.00	0.00	0.00
F <sub>2</sub> (Новосиб. 31×Лют. 111/09)	0.00	0.00	0.00	0.00
F <sub>1</sub> (Загора Новосиб.×Лют. 111/09)	0.35±0.34	0.35±0.34	0.00	0.35±0.34
F <sub>2</sub> (Загора Новосиб.×Лют. 111/09)	3.00±1.05	1.80±0.35	0.20±0.35	2.00±0.35
F <sub>1</sub> (Загора Новосиб.×Обская 2)	7.08 <sup>1</sup> ±3.94	0.00	2.92 <sup>1</sup> ±1.13	2.92±1.13
F <sub>2</sub> (Загора Новосиб.×Обская 2)	3.80±1.28	0.40	1.40 <sup>1</sup> ±1.08	1.80±1.24
Среднее значение	3.74	1.45	0.63	2.08
НСР <sub>0,05</sub>	2.50	1.72	0.42	1.88
НСР <sub>0,10</sub>	2.11	1.45	0.36	1.58

Примечание. Н – новообразования; ЗР – зеленые растения; А – альбинос; П – пыльники; ВР – всего регенерантов; Новосиб. – Новосибирская; Лют. – Лютесценс.

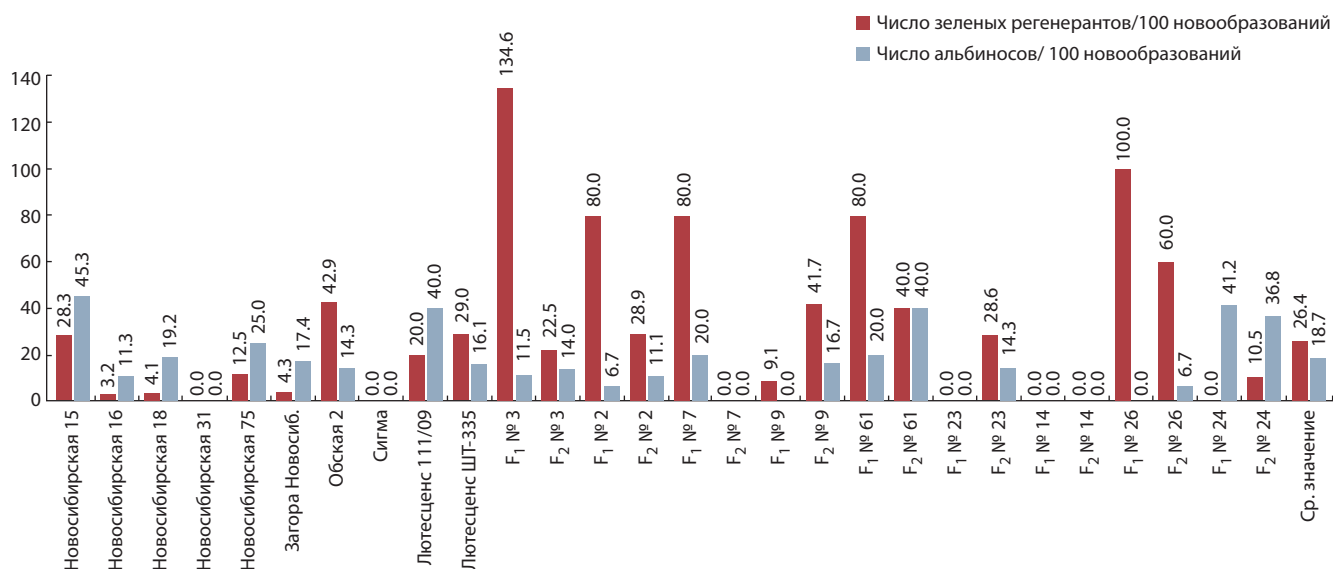
<sup>1</sup> Отличия от среднего значения достоверны при  $p = 0.05$ ; <sup>2</sup> отличия от среднего значения достоверны при  $p = 0.10$ .

зеленых регенерантов. Всего в опыте получено 150 зеленых растений-регенерантов.

Среди сортов обнаружено, что высокая продукция новообразований еще не гарантирует большой выход регенерантов. Так, превышали среднее значение по числу новообразований сорта Новосибирская 15 ( $p < 0.10$ ) и Новосибирская 16 ( $p < 0.05$ ), а регенерировал лучше сорт Новосибирская 15 (число ВР/100П = 4.33,  $p < 0.05$ ). У сорта Новосибирская 16 сформировалось 12.40 новообразований на 100 пыльников, из которых регенерировало 1.80 проростков на 100 пыльников (см. табл. 3). Этот факт подтверждает литературные данные о том, что

признаки андрогенеза *in vitro* контролируются полигенно и являются независимо наследуемыми (Ekiz, Konzak, 1994; Nielsen et al., 2015; Abd El-Fatah et al., 2020). Сорт Новосибирская 31 не формировал новообразований, примечательно, что в комбинации с этим генотипом в первом и втором поколениях также не формировалось структур. Таким образом, можно предположить, что мы обнаружили неотзывчивый генотип и это станет материалом для дальнейших исследований.

Способность новообразований регенерировать в проростки отражают признаки «число зеленых растений на 100 новообразований» и «число альбиносов на 100 но-



Доля регенерации зеленых и альбиносных растений на 100 новообразований в андрогенезе *in vitro* сортов и гибридов поколений F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub> пшеницы.

№ 3 (Новосибирская 15×Лютесценс ШТ-335), № 2 (Новосибирская 15×Лютесценс 111/09), № 7 (Новосибирская 16×Лютесценс 111/09), № 9 (Новосибирская 18×Лютесценс 111/09), № 61 (Новосибирская 18×Сигма), № 23 (Новосибирская 75×Лютесценс 111/09), № 14 (Новосибирская 31×Лютесценс 111/09), № 26 (Загора Новосибирская×Лютесценс 111/09), № 24 (Загора Новосибирская×Обская 2); НСР<sub>0,05</sub> (число ЗР/100Н) = 19.51; НСР<sub>0,05</sub> (число А/100Н) = 7.81.

вообразований» (см. рисунок). В среднем по опыту из 100 новообразований регенерировало больше зеленых растений, чем альбиносов, 26.41 и 18.74 соответственно. Лучшая регенерирующая способность, когда более половины новообразований формировали растения, отмечена у гибридов F<sub>1</sub> № 3 (Новосибирская 15×Лютесценс ШТ-335), № 2 (Новосибирская 15×Лютесценс 111/09), № 7 (Новосибирская 16×Лютесценс 111/09), № 61 (Новосибирская 18×Сигма), № 26 (Загора Новосибирская×Лютесценс 111/09) и F<sub>2</sub> № 26 (Загора Новосибирская×Лютесценс 111/09) (см. рисунок). Отмечено, что у гибрида F<sub>1</sub> № 3 (Новосибирская 15×Лютесценс ШТ-335) признак «число зеленых растений на 100 новообразований» составил более 100. Это можно объяснить явлением вторичного эмбриогенеза или способностью эмбриоподобных структур развиваться в полиэмбриониды. Результат того и другого – формирование клоновых или сестринских растений. Полиэмбриониды представляют собой структуры с несколькими очагами роста побегов (Сельдмирова, 2009; Pershina et al., 2020).

Явление альбинизма – ограничивающий фактор в получении ДН-линий в андрогенезе *in vitro*. В нашем опыте доля зеленых растений в общем числе проростков преобладала у образцов Обская 2, Лютесценс ШТ-335; у гибридов F<sub>1</sub> Новосибирская 15×Лютесценс ШТ-335, Новосибирская 15×Лютесценс 111/09, Новосибирская 16×Лютесценс 111/09, Новосибирская 18×Сигма, Загора Новосибирская×Лютесценс 111/09 и F<sub>2</sub> Новосибирская 18×Лютесценс 111/09, Новосибирская 75×Лютесценс 111/09, Загора Новосибирская×Лютесценс 111/09 (см. рисунок).

Из результатов дисперсионного анализа следует, что альбинизм обуславливается генотипом примерно на 50% (см. табл. 2). Известно несколько причин, которые могут способствовать проявлению альбинизма: это генотип,

условия выращивания растений-доноров, условия культивирования, состав сред, несовместимость ядерных и пластидных геномов, делеции или мутации в пластидной ДНК (Nielsen et al., 2015; Zhao P. et al., 2017). В литературе данных показана высокая достоверность влияния генотипа на число альбиносных растений-регенерантов (Lantos, Pauk, 2016; Castillo et al., 2019; Abd El-Fatah et al., 2020; Kanbar et al., 2020).

Генотипическая зависимость в феномене альбинизма связана с активацией транскрипции специфических генов, участвующих в начальных этапах биогенеза хлоропластов (Мозгова и др., 2006; Canonge et al., 2021). У альбиносных растений обнаружены делеции в хлоропластной ДНК, одновременно была ингибирована транскрипция ядерных генов, кодирующих локализованные в хлоропластах белки, в то время как уровень транскриптов ядерных генов, кодирующих белок, не входящий в состав хлоропластов, был идентичен уровню в зеленых растениях (Dunford, Walden, 1991).

Чтобы оценить перспективность использования изучаемых сортов в дальнейших скрещиваниях, была проведена оценка гетерозисного эффекта их гибридов. Гетерозисный эффект отзывчивости в андрогенезе *in vitro* описан ранее, и его степень варьирует от генотипа к генотипу (Ouyang et al., 1973; Ekiz, Konzak, 1994).

Гетерозис истинный (Г<sub>ист</sub>), гипотетический (Г<sub>гип</sub>), показатель наследуемости (Нр) и инбридинговую депрессию (ID%) рассчитывали для признака «число новообразований на 100 пыльников», поскольку, согласно результатам дисперсионного анализа, этот признак в значительной степени обусловлен генотипом, доля влияния фактора генотип составила 73.44% (см. табл. 2) и напрямую влияет на последующие показатели отзывчивости в андрогенезе *in vitro*. Максимальный гипотетический гетерозис опре-

**Таблица 4.** Гетерозисный эффект и показатель наследования признака «число новообразований/100 пыльников» девяти комбинаций мягкой пшеницы

Комбинация	Показатель			
	$\Gamma_{гип}$ , %	$\Gamma_{ист}$ , %	Hr	ID %
Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335	113.22	53.31	2.90 <sup>1</sup>	90.48
Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09	327.05	165.37	5.37 <sup>1</sup>	-71.21
Новосибирская 16 × Лютеценс 111/09	-74.84	-85.97	-0.94 <sup>3</sup>	-77.01
Новосибирская 18 × Лютеценс 111/09	-1.51	-37.24	-0.03 <sup>2</sup>	-59.33
Новосибирская 18 × Сигма	-37.97	-66.60	-0.44 <sup>2</sup>	-42.53
Новосибирская 75 × Лютеценс 111/09	-61.24	-67.61	-3.11 <sup>4</sup>	69.57
Новосибирская 31 × Лютеценс 111/09	-100	-100	_*	_*
Загора Новосибирская × Лютеценс 111/09	-83.09	-87.08	-2.69 <sup>4</sup>	757.14
Загора Новосибирская × Обская 2	345.28	161.25	4.90 <sup>1</sup>	-46.33

Примечание.  $\Gamma_{гип}$ , % – гетерозис гипотетический;  $\Gamma_{ист}$ , % – гетерозис истинный; ID % – инбридинговая депрессия; Hr – степень доминирования; <sup>1</sup> – положительный гетерозис; <sup>2</sup> – промежуточное наследование; <sup>3</sup> – отрицательное доминирование; <sup>4</sup> – отрицательный гетерозис; \* Показатель не рассчитывался, так как не было получено новообразований.

делен для комбинации Загора Новосибирская × Обская 2, минимальный – для комбинации Новосибирская 31 × Лютеценс 111/09 (табл. 4). Истинный гетерозис характеризует более сильное проявление признака в F<sub>1</sub> по сравнению с лучшей родительской формой.

Наибольший истинный гетерозис отмечен в комбинации Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09; 100 % отрицательный гетерозис был у гибридов с сортом Новосибирская 31, у которых не наблюдалось отзывчивости к андрогенезу, также значительный отрицательный  $\Gamma_{ист}$  отмечен в комбинациях Новосибирская 16 × Лютеценс 111/09 и Загора Новосибирская × Лютеценс 111/09.

Анализ показателя наследуемости выявил положительный гетерозис для комбинаций Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335, Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09, Загора Новосибирская × Обская 2. Промежуточное наследование определено для комбинаций с сортом Новосибирская 18. В комбинации Новосибирская 16 × Лютеценс 111/09 обнаружено отрицательное доминирование, а в комбинациях Новосибирская 75 × Лютеценс 111/09 и Загора Новосибирская × Лютеценс 111/09 – отрицательный гетерозис.

Среди гибридов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> наблюдается разная степень проявления признаков андрогенеза *in vitro*. По числу новообразований на 100 пыльников первое поколение превосходило второе в комбинациях Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09, Новосибирская 16 × Лютеценс 111/09, Новосибирская 18 × Лютеценс 111/09, Новосибирская 18 × Сигма, Загора Новосибирская × Обская 2. Инбридинговая депрессия отмечена в комбинациях Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335, Новосибирская 75 × Лютеценс 111/09, Загора Новосибирская × Лютеценс 111/09 (см. табл. 4). Отрицательный показатель ID % говорит о превосходстве проявления признака у гибридов F<sub>1</sub> над F<sub>2</sub>.

Подводя итог проведенного анализа наследования способности микроспор формировать новообразования для

различных комбинаций, следует обратить внимание на положительные показатели для комбинаций с сортом Новосибирская 15. Эти результаты согласуются с ранее полученными данными по изучению отзывчивости гибридов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> Обская 2 × Новосибирская 15 в сравнении с родительскими сортами (Петраш и др., 2022). Изучение характера наследования на многих комбинациях позволяет оценивать формирование положительного ответа в андрогенезе *in vitro* гибридов и в дальнейшем осуществлять эффективный подбор пар при скрещиваниях в рамках селекционных программ с использованием метода удвоенных гаплоидов.

## Заключение

Это исследование проведено для изучения потенциала исходного селекционного материала в андрогенезе *in vitro* на 10 различных сортах мягкой пшеницы и 9 комбинациях F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub>. Всего в опыте анализировали 28 генотипов. Оценивали такие показатели андрогенеза, как число новообразований (эмбриоподобные структуры и каллусы), число зеленых регенерантов, число альбиносов и число всех регенерировавших растений.

Выявлены сорта с отзывчивостью в культуре пыльников (Новосибирская 15) и с отсутствием отзывчивости к андрогенезу *in vitro* (Новосибирская 31). Сорт Новосибирская 16 характеризуется низкой регенерационной способностью новообразований. Среди гибридов значительный гетерозисный эффект отмечен в комбинациях Новосибирская 15 × Лютеценс ШТ-335, Новосибирская 15 × Лютеценс 111/09, Загора Новосибирская × Обская 2. Положительный гетерозис признака «число новообразований на 100 пыльников» выявлен в комбинациях сортов Новосибирская 15, промежуточное наследование – в комбинациях сорта Новосибирская 18. Сорт Новосибирская 15 рекомендован к включению в скрещивания как сорт, обеспечивающий высокую отзывчивость в андрогенезе

*in vitro* гибридов, по сравнению со вторым родительским сортом. Благодаря использованию технологии удвоенных гаплоидов на данном гибридном материале созданы ДН-линии, которые в настоящее время проходят оценку в полевых условиях.

## Список литературы / References

- Колесникова Е.О., Донских Е.И., Бердников Р.В. Биотехнологии гаплоидов как инструмент создания селекционного материала сахарной свеклы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(8):812-821. DOI 10.18699/VJ21.094 [Kolesnikova E.O., Donskikh E.I., Berdnikov R.V. Haploid biotechnology as a tool for creating a selection material for sugar beets. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(8):812-821. DOI 10.18699/VJ21.094 (in Russian)]
- Мозгова Г.В., Орлов П.А., Шалыго Н.В. Анализ изменчивости эволюционно нестабильных областей хлоропластного генома у растений, полученных в культуре пыльников дигаплоидных линий пшеницы. *Генетика*. 2006;42(2):192-197 [Mozgova G.V., Orlov P.A., Shalygo N.V. Variation in evolutionary unstable regions of the chloroplast genome in plants obtained in the anther culture of dihaploid wheat lines. *Genetika = Genetics*. 2006;42(2):192-197 (in Russian)]
- Омаров Д.С. К методике учета и оценки гетерозиса у растений. *С.-х. биология*. 1975;10(1):123-127 [Omarov D.S. On the methodology of recording and assessing heterosis in plants. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 1975;10(1):123-127 (in Russian)]
- Першина Л.А., Осадчая Т.С., Бадаева Е.Д., Белан И.А., Россева Л.П. Изучение особенностей андрогенеза в культуре пыльников сортов и перспективной формы яровой мягкой пшеницы западносибирской селекции, различающихся наличием или отсутствием пшенично-чужеродной транслокации. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(1):40-49 [Perшина L.A., Osadchaya T.S., Badaeva E.D., Belan I.A., Rosseva L.P. Features of androgenesis in anther cultures of varieties and a promising accession of spring common wheat bred in West Siberia differing in the presence or absence of wheat-alien translocations. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(1):40-49 (in Russian)]
- Петраш Н.В., Орлова Е.А., Лихенко И.Е., Пискарев В.В. Изучение эффективности культуры пыльников *in vitro* сортов и гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Зерновое хоз-во России*. 2022;14(6):17-22. DOI 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22 [Petraш N.V., Orlova E.A., Likhenco I.E., Piskarev V.V. The study of the efficiency of anther culture *in vitro* of bread wheat varieties and hybrids (*Triticum aestivum* L.). *Zernovoe Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2022;14(6):17-22. DOI 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22 (in Russian)]
- Сельдмирова О.А. Формирование полиэмбриоидов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2009;41(6):531-538 [Seldmirova O.A. Formation of polyembryoids in *in vitro* culture of wheat anthers. *Fiziologiya i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii = Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*. 2009;41(6):531-538 (in Russian)]
- Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. Новосибирск, 2004 [Sorokin O.D. Applied Statistics on the Computer. Novosibirsk, 2004 (in Russian)]
- Тимонова Е.М., Адонина И.Г., Салина Е.А. Изучение влияния чужеродных транслокаций на показатели андрогенеза *in vitro* у линий мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(1):127-134. DOI 10.30901/2227-8834-2022-1-127-134 [Timonova E.M., Adonina I.G., Salina E.A. The influence of combinations of alien translocations on *in vitro* androgenesis in spring common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Tруды по Прикладной Ботанике, Генетике и Селекции = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(1):127-134. DOI 10.30901/2227-8834-2022-1-127-134 (in Russian)]
- Уразалиев К.Р. Гаплоидные технологии в селекции растений. *Биотехнология. Теория и практика*. 2015;3:33-44. DOI 10.11134/btp.3.2015.4 [Urazaliyev K.R. Doubled haploids technology in plants. *Biotechnologiya. Teoriya i Praktika = Biotechnology. Theory and Practice*. 2015;3:33-44. DOI 10.11134/btp.3.2015.4 (in Russian)]
- Эмбриологические основы андроклинии пшеницы. Атлас. М.: Наука, 2005 [Embryological Foundations of the Wheat Androclinium: Atlas. Moscow: Nauka Publ., 2005 (in Russian)]
- Abd El-Fatah B.E.S., Sayed M.A., El-Sanusy S.A. Genetic analysis of anther culture response and identification of QTLs associated with response traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol. Biol. Rep.* 2020;47(12):9289-9300. DOI 10.1007/s11033-020-06007-z
- Agache S., Bachelier B., de Buyser J., Henry Y., Snape J. Genetic analysis of anther culture response in wheat using aneuploid, chromosome substitution and translocation lines. *Theor. Appl. Genet.* 1989; 77(1):7-11. DOI 10.1007/bf00292308
- Canonge J., Roby C., Hamon C., Potin P., Pfannschmidt T., Philippot M. Occurrence of albinism during wheat androgenesis is correlated with repression of the key genes required for proper chloroplast biogenesis. *Planta*. 2021;254(6):123. DOI 10.1007/s00425-021-03773-3
- Castillo A.M., Sánchez-Díaz R.A., Vallés M.P. Effect of ovary induction on bread wheat anther culture: ovary genotype and developmental stage, and candidate gene association. *Front. Plant Sci.* 2015;6: 402. DOI 10.3389/fpls.2015.00402
- Castillo A.M., Allue S., Costar A., Alvaro F., Valles M.P. Doubled haploid production from Spanish and Central European spelt by anther culture. *J. Agric. Sci. Technol.* 2019;21(5):1313-1324
- Chaudhary H.K., Dhaliwal I., Singh S., Sethi G.S. Genetics of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. *Euphytica*. 2003;132: 311-319. DOI 10.1023/A:1025094606482
- Chu C.-C. The N<sub>6</sub>-medium and its application to anther culture of cereal crops. In: Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture (25–30 May 1978). Peking: Science Press, 1978:43-50
- Dagüstü N. Diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 2008;7(19):3419-3423
- Dunford R., Walden R.M. Plastid genome structure and plastid-related levels in albino barley plants derived from anther culture. *Curr. Genet.* 1991;20(4):339-347. DOI 10.1007/BF00318524
- Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploration. *Plant Biotechnol. J.* 2010;8(4):377-424. DOI 10.1111/j.1467-7652.2009.00498
- Ekiz H., Konzak C.F. Preliminary diallel analysis of anther culture response in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breed.* 1994;113(1): 47-52. DOI 10.1111/j.1439-0523.1994.tb00700.x
- El-Hennawy M.A., Abdalla A.F., Shafey S.A., Al-Ashkar I.M. Production of doubled haploid wheat lines (*Triticum aestivum* L.) using anther culture technique. *Ann. Agric. Sci.* 2011;56(2):63-72. DOI 10.1016/j.aos.2011.05.008
- Forster B.P., Thomas W.T. Doubled haploids in genetics and plant breeding. In: Janick J. (Ed.). *Plant Breeding Reviews*. Vol. 25. John Wiley & Sons, 2005;57-88. DOI 10.1002/9780470650301.ch3
- Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968;46(5):417-421. DOI 10.1139/o68-063
- Grauda D., Žagata K., Lanka G., Strazdina V., Fetere V., Lisina N., Krasnevska N., Fokina O., Mikelsone A., Ornicans R., Belogrudova I., Rashal I. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants-regenerants produced by anther culture. *Vavilovskii Zhurnal*



- Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(4):537-544. DOI 10.18699/VJ16.176
- Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 1956;9:463-493
- Guha S., Maheshwari S. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*. 1964;204(4957):497-497. DOI 10.1038/204497a0
- Hale B., Ferrie A.M., Chellamma S., Samuel J.P., Phillips G.C. Androgenesis-based doubled haploidy: Past, present, and future perspectives. *Front. Plant Sci.* 2022;12:751230. DOI 10.3389/fpls.2021.751230
- Hao M., Chen J., Zhang L., Luo J., Yuan Z., Yan Z., Liu D. The genetic study utility of a hexaploid wheat DH population with non-recombinant A-and B-genomes. *SpringerPlus*. 2013;2(1):131. DOI 10.1186/2193-1801-2-131
- Kanbar O.Z., Lantos C., Chege P., Kiss E., Pauk J. Generation of doubled haploid lines from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material using *in vitro* anther culture. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2020;56(4):150-158. DOI 10.17221/113/2019-CJGPB
- Kasha K.J., Maluszynski M. Production of doubled haploids in crop plants. An introduction. In: Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. (Eds.). *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Dordrecht: Springer, 2003;1-4. DOI 10.1007/978-94-017-1293-4\_1
- Kondic-Špika A., Vukosavljev M., Kobiljski B., Hristov N. Relationships among androgenic components in wheat and their responses to the environment. *J. Biol. Res.* 2011;16:217-223
- Lantos C., Pauk J. Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding. *Russ. J. Genet.* 2016;52(8):794-801. DOI 10.1134/S102279541608007X
- Lantos C., Pauk J. Factors influencing the efficiency of wheat anther culture. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2020;62(2):7-16. DOI 10.24425/abcsb.2020.131671
- Lantos C., Weyen J., Orsini J.M., Gnad H., Schlieter B., Lein V., Kontowski S., Jacobi A., Mihály R., Broughton S., Pauk J. Efficient application of *in vitro* anther culture for different European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programmes. *Plant Breed.* 2013;132(2):149-154. DOI 10.1111/pbr.12032
- Lazaridou T., Pankou C., Xynias I., Roupakias D. Effect of D genome on wheat anther culture response after cold and mannitol pretreatment. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 2016;58(1):95-102. DOI 10.1515/abcsb-2016-0006
- Li H., Singh R.P., Braun H.J., Pfeiffer W.H., Wang J. Doubled haploids versus conventional breeding in CIMMYT wheat breeding programs. *Crop Sci.* 2013;53(1):74-83. DOI 10.2135/CROPSCI2012.02.0116
- Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. (Eds.). *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Dordrecht: Springer, 2003. DOI 10.1007/978-94-017-1293-4
- Nielsen N.H., Andersen S.U., Stougaard J., Jensen A., Backes G., Jahoor A. Chromosomal regions associated with the *in vitro* culture response of wheat (*Triticum aestivum* L.) microspores. *Plant Breed.* 2015;134(3):255-263. DOI 10.1111/pbr.12257
- Ouyang J.W., Hu H., Chuang C.C., Tseng C.C. Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum* L. cultured *in vitro*. *Sci. Sin.* 1973;16:79-95
- Pederson D.G. The estimation of heritability and degree of dominance from a diallel cross. *Heredity*. 1971;27(2):247-264. DOI 10.1038/hdy.1971.88
- Pershina L., Trubacheeva N., Badaeva E., Belan I., Rosseeva L. Study of androgenic plant families of alloplasmic introgression lines (*H. vulgare*)–*T. aestivum* and the use of sister DH lines in breeding. *Plants*. 2020;9(6):764. DOI 10.3390/plants9060764
- Seguí-Simarro J.M., Moreno J.B., Fernández M.G., Mir R. Species with haploid or doubled haploid protocols. In: Seguí-Simarro J.M. (Ed.). *Doubled Haploid Technology. Methods in Molecular Biology*. Vol. 2287. New York: Humana, 2021a;41-103. DOI 10.1007/978-1-0716-1315-3\_3
- Seguí-Simarro J.M., Jacquier N.M., Widiez T. Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies. In: Seguí-Simarro J.M. (Ed.). *Doubled Haploid Technology. Methods in Molecular Biology*. Vol. 2287. New York: Humana, 2021b;3-22. DOI 10.1007/978-1-0716-1315-3\_1
- Sharma S., Sethi G.S., Chaudhary H.K. Influence of winter and spring wheat genetic backgrounds on haploid induction parameters and trait correlations in the wheat × maize system. *Euphytica*. 2005; 144(1-2):199-205. DOI 10.1007/s10681-005-5812-9
- Turesson S., Ljungberg A., Johansson N., Karlsson K.E., Suijs L.W., Josset J.P. Large-scale production of wheat and triticale double haploids through the use of a single-anther culture method. *Plant Breed.* 2000;119(6):455-459. DOI 10.1046/j.1439-0523.2000.00536.x
- Turesson S.A., von Post R., Ljungberg A. Wheat anther culture. In: Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P., Szarejko I. (Eds.). *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Dordrecht: Springer, 2003;71-76. DOI 10.1007/978-94-017-1293-4\_12
- Wędzony M., Forster B.P., Żur I., Golemic E., Szechyńska-Hebda M., Dubas E., Gotębiowska G., Wędzony M. Progress in doubled haploid technology in higher plants. In: Touraev A., Forster B.P., Jain S.M. (Eds.). *Advances in Haploid Production in Higher Plants*. Dordrecht: Springer, 2009;1-33. DOI 10.1007/978-1-4020-8854-4\_1
- Zhao L., Liu L., Wang J., Guo H., Gu J., Zhao S., Li J., Xie Y. Development of a new wheat germplasm with high anther culture ability by using of gamma-ray irradiation and anther culture. *J. Sci. Food Agric.* 2015;95(1):120-125. DOI 10.1002/jsfa.6691
- Zhao P., Wang K., Zhang W., Liu H.Y., Du L.P., Hu H.R., Ye X.G. Comprehensive analyses of differently expressed genes and proteins in albino and green plantlets from a wheat anther culture. *Biol. Plant.* 2017;61:255-265. DOI 10.1007/s10535-016-0662-y

#### ORCID

N.V. Petrash orcid.org/0000-0002-7499-6803  
T.N. Kapko orcid.org/0000-0003-1573-1618  
V.V. Sovetov orcid.org/0000-0003-4497-9137

**Благодарности.** Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН № FWRN-2022-0017.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 01.08.2023. После доработки 29.09.2023. Принята к публикации 05.10.2023.